

- 杂志,2009,50(12):69-70S1.
- [8] 杨俊香,李占华,马彦峰. 中医辨证治疗霉变甘蔗中毒 25 例体会[J]. 临床荟萃,2007,22(12):893-894.
- [9] 吴琳莉,李志龙,苏鹤,等. 霉变甘蔗中毒 16 例临床报告[J]. 现代中医药,2007,2(27):22-23.
- [10] 梁瑞乾. 霉变甘蔗中毒一例报告[J]. 广西医学,2003,25(11):2299-2300.
- [11] 中华人民共和国卫生部. WS/T 10—1996 变质甘蔗食物中毒诊断标准及处理原则[S]. 北京:中国标准出版社,1996.
- [12] 汪傲,雷祖玉,冯学勤,等. 我国某些豆科植物中 3-硝基丙酸的气相色谱和气相色谱-质谱研究[J]. 草地学报,1992,9(2):34.
- [13] 刘勇,吴南,吴永宁,等. 3-硝基丙酸的气相色谱-热能检定器测定法及其在大鼠体内的毒物代谢动力学研究[J]. 卫生研究,1993,22(1):35-38.
- [14] 江涛,张庆林,罗雪云,等. 3-硝基丙酸的高效液相色谱分析[J]. 卫生研究,1999,28(5):300-302.
- [15] 王媛,顾惠新,路鑫,等. 以亲水作用色谱为核心的液相色谱联用技术及其应用研究[J]. 色谱,2008,26(2):649-657.
- [16] ELISABETH A, WOLFGANG B, MICHAEL L, et al. Retention pattern profiling of fungal metabolites on mixed-mode reversed-phase/weak anion exchange stationary phases in comparison to reversed-phase and weak anion exchange separation materials by liquid chromatography-electrospray ionisation-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A,2008,1191:171-181.
- [17] MICHAEL S, RUDOLF K, RAINER S. Application of an LC-MS/MS based multi-mycotoxin method for the semi-quantitative determination of mycotoxins occurring in different types of food infected by moulds[J]. Food Chem,2010,119:408-416.
- [18] 赵榕,李兵,赵海燕,等. 固相萃取-超高效液相色谱串接四级杆质谱同时测定调味品中 12 种工业染料[J]. 中国食品卫生杂志,2010,22(5):305-311.
- [19] 蔡增轩,徐小民,俞和建,等. 生物样品中 6 种抗凝血鼠药的测定[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(10):2006-2008.
- [20] 赵榕,赵海燕,李兵,等. 建立同时测定调味品中非法添加的 4 种工业染料的 SPE-UPLC-MS/MS 法研究[J]. 中国食品卫生杂志,2009,21(5):410-414.
- [21] 陈小华,汪群杰. 固相萃取技术与应用[M]. 北京:科学出版社,2010.
- [22] 赵榕,邵兵,赵婕,等. 液相色谱-电喷雾质谱/质谱法测定高温烹制的淀粉类食品中的丙烯酰胺[J]. 色谱,2005,23(3):289-291.

## 实验技术与方法

### 高效液相色谱-示差折光法测定保健食品中的低聚木糖

刘泰然,李洁,刘平,陈忠辉,罗仁才

(北京市疾病预防控制中心,北京 100013)

**摘要:**目的 建立高效液相色谱-示差折光测定保健食品中的低聚木糖(以木糖计)的方法。方法 样品经水提取,在沸水浴中用硫酸水解,用氢氧化钠调成中性后以乙腈+水(70+30)为流动相,通过氨基柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)分离后用示差折光检测器检测,同一样品在水解前后木糖含量的差值即为样品中低聚木糖的含量。结果 被测组分浓度(0.30~4.50 mg/ml)与峰面积线性关系良好( $r=0.9999$ );相对标准偏差 1.86%~3.80% ( $n=6$ ),在固体保健食品中加标回收率为 90.3%~93.6%和 92.6%~98.3%;在液体保健食品中加标回收率为 89.0%~97.0%和 91.0%~96.0%。结论 本方法快速、灵敏、重现性好,适用于测定保健食品中的低聚木糖。

**关键词:**高效液相色谱;示差折光检测器;低聚木糖;木糖

中图分类号:O657.72 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)02-0132-04

### Determination of xylo-oligosaccharides in health foods by HPLC with differential refractive index detector

Liu Tairan, Li Jie, Liu Ping, Chen Zhonghui, Luo Rencai

(Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

**Abstract; Objective** To develop an analytical method for the determination of xylo-oligosaccharides in health foods by high performance liquid chromatography with differential refractive index detector. **Methods** The samples were extracted and then hydrolyzed (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with sulfuric acid solution in boiling water bath; neutralized with sodium hydroxide solution; separated on a NH<sub>2</sub> column with a mixture of acetonitrile-water (70 + 30, V/V) as mobile phase; detected by refractive index detector at a flow rate of 1.0 ml/min. **Results** There was a good linearity of the calibration

收稿日期:2011-06-21

作者简介:刘泰然 女 主管检验师 研究方向为食品检测 E-mail:lt724@yahoo.com.cn

通信作者:罗仁才 男 主任技师 研究方向为食品检测

curve between the peak area and the mass concentration of xylose in the range of 0.30–4.50 mg/ml ( $r=0.9999$ ); The relative standard deviations were 1.86%–3.80% ( $n=6$ ); the recoveries were 90.3%–98.3% in solid health foods and 89.0%–97.0% in liquid foods. **Conclusion** This method is found to be simple, rapid, precise and accurate. Therefore, the method can be successfully used for the determination of xylo-oligosaccharides in health foods.

**Key words:** High performance liquid chromatography; differential refractive index detector; xylo-oligosaccharides; D-xylose

低聚木糖,又称木寡糖,是以富含木聚糖的植物(如玉米芯、蔗渣、棉籽糖等)为原料通过木聚糖酶水解分离而得的一类功能性低聚糖,本身不产生能量,主要功能为润肠通便、提高免疫力、降低血压及血糖、调节肠道菌群。它由2~7个木糖分子以 $\beta$ -1,4糖苷键结合而成,耐酸耐热,在pH2.5~8.0范围内性质稳定<sup>[1-3]</sup>。与人们通常所用的大豆低聚糖、低聚果糖、低聚异麦芽糖等相比,低聚木糖可以选择性地促进肠道双歧杆菌的增殖,其双歧因子功能是其其他聚合糖类的10~20倍,是一种高效益生元<sup>[4]</sup>。

目前已报道的低聚木糖测定方法,都是采用高效液相色谱法,但是,大多数含有低聚木糖的保健食品都含有大量的氨基酸、蛋白质以及其他的糖类物质,这些物质会对低聚木糖的测定产生干扰,保健食品中的某些食品添加剂也会形成干扰;同时,这些方法需要备齐所有的低聚木糖标准对照品,其中部分标准对照品难以获得,在日常检测中十分不便。本试验用硫酸将保健食品中的低聚木糖水解为木糖后,再用高效液相色谱法测定。经方法学考察,本方法简便、快捷,精密度和准确度符合要求,可用于保健食品中低聚木糖的测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Waters-2695系统(配410示差折光检测器),超纯水发生器(Millipore),氨基柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m)。

### 1.2 试剂

乙腈(色谱纯),无水乙醇(优级纯);硫酸、氢氧化钠(分析纯);超纯水,0.45  $\mu$ m水相过滤膜。

氢氧化钠溶液(400 g/L):称取40.0 g氢氧化钠,加水溶解后放冷并稀释至100 ml。

4 mol/L硫酸:先加入约50 ml水,再量取22.2 ml浓硫酸,放冷后加水稀释至100 ml。

乙酸锌溶液:21.9 g乙酸锌加入3 ml冰乙酸,加水溶解并稀释至100 ml。

亚铁氰化钾溶液:10.6 g亚铁氰化钾加水溶解并稀释至100 ml。

### 1.3 低聚木糖(以木糖计)标准品

D-木糖标准品,纯度97%,购自Sigma公司。

D-木糖标准溶液:精密称取D-木糖标准品3.000 0 g,加少量水使其完全溶解,用水定容为

100 ml,此液浓度为30.0 mg/ml,备用。

D-木糖标准使用液:将标准液用水稀释成0.30、0.60、1.50、3.00、4.50 mg/ml的标准系列。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 样品前处理

称取1.0 g固体样品(液体样品10.0 ml)(若样品中含有乙醇,加热除去)加水溶解后加入1.5 ml乙酸锌和亚铁氰化钾溶液,转入50.0 ml容量瓶中,用水定容至刻度(该溶液为样品水解前溶液M1)。若样品有油脂,取上清液操作进行下一步水解。

#### 1.4.2 水解

取M1溶液10.0 ml(必要时以4 000 r/min离心10 min),加入4 mol/L硫酸溶液1.80 ml,摇匀,于100  $^{\circ}$ C水解2 h,冷却,用NaOH溶液(400 g/L)调pH5~7,加水定容到25.0 ml容量瓶中,取上清液2.0 ml,用水定容至10.0 ml,以0.45  $\mu$ m水相膜过滤(该溶液为样品水解后溶液M2)。

### 1.5 色谱条件

色谱柱为氨基柱;流动相:乙腈+水=70+30;流速1.0 ml/min;柱温40  $^{\circ}$ C;检测器温度35  $^{\circ}$ C;进样量10  $\mu$ l。

### 1.6 计算公式

$$X = \frac{C_2 \times 25 \times 100}{M \times 2 \times 1000} - \frac{C_1 \times 50 \times 100}{M \times 1000}$$

式中,X—样品中D-木糖的含量(g/100 g); $C_2$ —从标准曲线上查得的水解后样品中D-木糖的浓度(mg/ml); $C_1$ —从标准曲线上查得的水解前样品处理液中D-木糖的浓度(mg/ml); $M$ —取样量(g/ml)。

## 2 结果与分析

### 2.1 水解条件的确定

采用本方法对低聚木糖样品水解,进行测定,见图1。木糖组分浓度随水解时间增加而增大,在60 min不能完全水解生成木糖,导致测定结果偏低,水解2 h后组分浓度慢慢降低,并且发生美拉德反应,所以最佳水解时间为2 h。

用本方法将低聚木糖水解成木糖,无组分残留,并尽可能保护木聚糖不至于降解,提高检测的准确性<sup>[5]</sup>。

### 2.2 流动相的选择

在测定过程中,增加流动相中水的比例,可以分离含有10~15个单糖分子的化合物;反之,可以改善单聚物的分离。但是如果水的比例低于20%,

由于溶解度的降低,会出现不对称峰。本文选用乙腈 + 水 = 70 + 30 作为流动相,既保证了被测组分的分离效果(出峰时间大约为 8 min),又保证了测定方法的灵敏度。标准及样品色谱图见图 2 至图 4。

### 2.3 关于干扰物质

糖类物质属于紫外可见透明物质,如果在波长 190 nm 检测糖类物质,紫外检测器灵敏度与示差检测器大致相同,但基线噪音相当大,影响测定<sup>[6]</sup>。所以一般都采用示差检测器测定糖类物质。由于本试验中使用的是正相柱,对于液体样品中存在的防腐剂,相对于被测物质来说含量很低,而且在柱

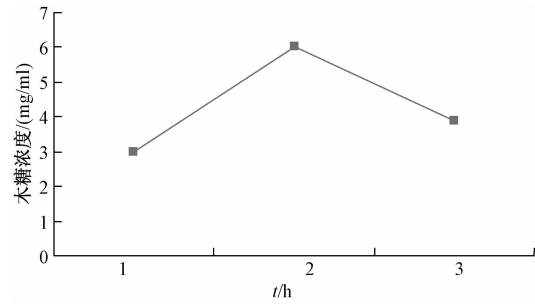


图 1 水解时间对木糖浓度的影响  
Figure 1 Effect of hydrolyzing time on the concentration of xylose

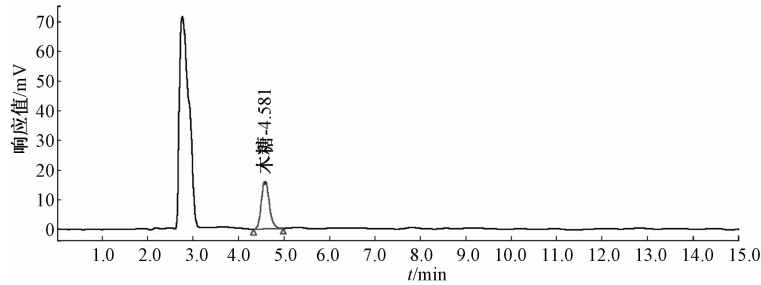


图 2 标准品色谱图  
Figure 2 Chromatogram of standards

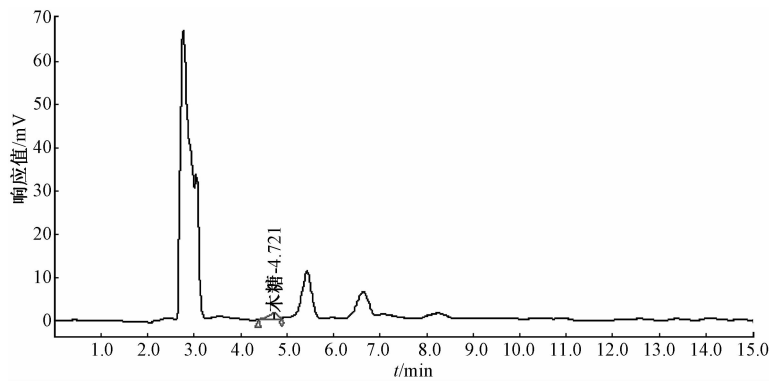


图 3 水解前样品色谱图  
Figure 3 Chromatogram of sample before hydrolysis

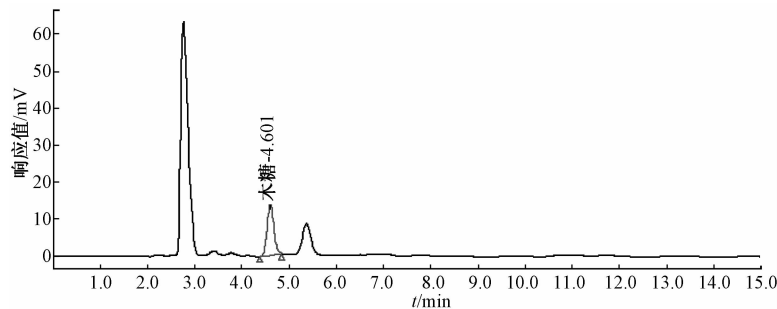


图 4 水解后样品图谱  
Figure 4 Chromatogram of hydrolyzed sample

中被保留,不影响测定;而其他食品添加剂(甜味剂、着色剂)、其他糖类(木糖醇)相对于被测物质来

说其浓度多数低于检测限不能被检测到。

### 2.4 准确度试验

使用2种保健食品(固体样品和液体样品)为本底,分别进行两浓度各6次的加标回收实验,在固体保健食品中回收率为90.3%~93.6%和92.6%~98.3%,平均回收率为91.8%和94.2%;在液体保健食品中回收率为89.0%~97.0%和91.0%~96.0%,平均回收率分别为93.1%和95.2%,见表1。

### 2.5 精密度试验

分别对2种剂型的保健食品样品进行6次测定,RSD为1.86%和3.80%,见表2。

### 2.6 线性关系和检出限

配制含D-木糖0.30、0.60、1.50、3.00、4.50 mg/ml的标准系列。按本方法操作,结果质量浓度与峰面积线性关系良好,  $y = 4.29e + 004x - 1.89e + 003$ ,  $r = 0.9999$ ,见图5。本方法检出限为0.043 mg/ml ( $S/N = 3$ )。

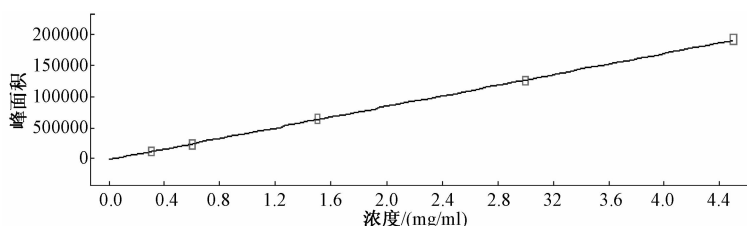


图5 标准曲线色谱图

Figure 5 Standard calibration curve

## 3 结论

本文建立了示差-高效液相色谱测定保健食品中低聚木糖的方法,本方法操作简便、准确度、精密度等符合要求,可操作性强,可排除其他低聚糖的干扰,适用于保健食品中低聚木糖的测定。

表1 回收率实验

Table 1 Results of recovery test ( $n = 6$ )

保健食品剂型	本底值 (mg)	添加量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
固体	0.3	9.0	90.3~93.6	91.8
固体	1.1	90.0	92.6~98.3	94.2
液体	0.1	1.0	89.0~97.0	93.1
液体	0.2	10.0	91.0~96.0	95.2

表2 精密度实验结果

Table 2 Results of precision test ( $n = 6$ )

保健食品剂型	测定结果 (g/100 g)	平均结果 (g/100 g)	RSD (%)
固体	48.9;49.5;47.6;47.3;49.2;48.1	48.4	1.86
液体	4.8;5.1;4.7;5.2;5.0;4.9	5.0	3.80

## 参考文献

[1] 凌沛学. 低聚木糖功能与应用研究进展[J]. 食品与药品, 2007,9(9):35.  
 [2] 肖林. 硫酸水解法测定果胶中低聚木糖含量及方法学验证[J]. 中国食品添加剂,2008,S1:178.  
 [3] 石波. 低聚木糖的制备与分离[J]. 食品添加剂,2004,25(7):113.

[4] 何照范,张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998:14-16.  
 [5] 陈牧. 硫酸水解-高效液相色谱法定量测定低聚木糖[J]. 生物物质化学工程,2010,44(6):14.  
 [6] 何国亮. 硫酸水解-高效液相色谱法间接测定蜂蜜中低聚木糖[J]. 粮油食品科技,2008,16(2):64.

## 陈啸宏副部长出席第44届国际食品添加剂法典委员会会议

2012年3月12日—16日,第44届国际食品添加剂法典委员会(简称CCFA)会议在浙江省杭州市举行,卫生部陈啸宏副部长出席开幕式并致辞。国际食品法典委员会一直致力于保护各国消费者健康并积极维护国际间公平的食品贸易,对促进全球食品安全产生重要影响。

陈啸宏副部长介绍了中国食品安全工作进展情况,包括继续健全食品安全法规制度、深入开展食品安全综合治理、加快食品安全国家标准体系建设、加强食品安全风险评估和监测工作等方面。2011年11月,中国成立了国家食品安全风险评估中心,进一步加强了食品安全技术支撑能力建设。他表示,中国愿意与世界各国一道,继续推进国际食品安全与食品贸易,为维护全球人民的利益做出努力。

本次会议是我国担任国际食品添加剂法典委员会主持国以来,主办的第六次会议。来自55个成员国和1个成员组织(欧盟)及31个国际组织的200余名代表参加了本届会议。本次会议将重点研究食品添加剂法典通用标准(GSFA)、食盐标准、国际粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(JECFA)优先评估的食品添加剂名单、食品添加剂质量规格标准等相关内容。